

Aus dem anatomischen Institut der Universität Zürich
Direktor: Prof. Dr. Gian Töndury

Zur Beeinflussung der Furchung von Molcheiern durch weibliche Sexualhormone

Halbseitenbeeinflussung

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde der Medizin der
Medizinischen Fakultät der Universität Zürich

Vorgelegt von

Marco Mumenthaler von Langenthal (Be)

Genehmigt auf Antrag von
Herrn Prof. Dr. Gian Töndury.

1950

Aus dem anatomischen Institut der Universität Zürich
Direktor: Prof. Dr. Gian Töndury

Zur Beeinflussung der Furchung von Molcheiern durch weibliche Sexualhormone

Halbseitenbeeinflussung

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde der Medizin der
Medizinischen Fakultät der Universität Zürich

Vorgelegt von

Marco Mumenthaler von Langenthal (Be)

Genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. Gian Töndury

Zürich 1950



Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung

II. Methodik

1. Material
2. Stoffe, Konzentration, Temperatur, Versuchsdauer
3. Farbmarkierungen
4. Fixation, Schnitte, Färbungen

III. Experimenteller Teil

1. Allgemeine Versuchsbeobachtungen
2. Einfluß der Temperatur auf die Hormonwirkung
3. Einfluß der Hormonkonzentration
4. Milieudifferenzkammer
 - a) Beschreibung der Kammer
 - b) Beschreibung einzelner Versuche
5. Mikroskopische Auswertung
 - a) Furchungsunregelmäßigkeiten
 - b) Kernverhältnisse: Mitose, Ruhekern

IV. Diskussion der Ergebnisse

V. Zusammenfassung

VI. Literaturverzeichnis



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. Einleitung

Die vorliegende Arbeit stellt das Ergebnis einer Reihe von experimentellen Untersuchungen über den Einfluß von weiblichen Sexualhormonen auf frühe Entwicklungsstadien von Amphibieneiern dar. Sie gehört in den Rahmen von Arbeiten, die in systematischer Folge von Töndury und seinen Mitarbeitern durchgeführt wurden. Töndury hat 1941 in einer ersten Arbeit über die Beeinflussung der Neurulation durch Testosteron und verwandte Substanzen berichtet. Neben Mitosestörungen beobachtete er eine deutliche Retardation der Entwicklung, die von Störungen der Neurulation begleitet war. Die Hormone der weiblichen Reihe, wie Oestradiol, zeichneten sich durch ihre viel frühere Wirksamkeit aus, indem sie schon den Ablauf der Eifurchung störten. Töndury (43) konnte hierbei ähnliche Mitosestörungen feststellen, wie sie v. Möllendorff bei Fibrocytenkulturen, die er mit weiblichen Sexualhormonen behandelt hatte, beobachtete. Während aber Fibrocyten in der Gewebekultur nur Störungen der Kernteilung erkennen ließen, zeigten die behandelten Tritoneier auch Schädigungen des Zellplasmas, ganz allgemein eine größere Empfindlichkeit gegenüber den Hormonlösungen.

Lüscher (45) untersuchte die Wirkung von Stilböstrol auf Tubifex-eier. Auch er stellte Mitosestörungen fest, die im einzelnen den bei Molcheiern beobachteten entsprechen. Bei Anwendung von starken Konzentrationen (1 : 300.000) konnte er außerdem in vivo das Auflösen von Kernen und ihr Verschwinden beobachten. Aus allen bisher vorliegenden Versuchsergebnissen lassen sich einige für weitere Versuche bedeutungsvolle Fragestellungen ableiten.

1. Abhängigkeit der Störungen in Furchung und Mitose von der Konzentration der Versuchslösungen und von der Temperatur.

Nach v. Möllendorff wirken Oestradiol und Stilböstrol auf Gewebekulturen in Konzentrationen von 1 : 20.000 bis 1 : 200.000. Töndury fand, daß die beiden Hormone in Konzentrationen von 1 : 200.000 bis 1 : 2 Millionen auf die Entwicklung von Amphibieneiern wirken. Je nach der Konzentration zeigten sich nicht nur graduelle, sondern auch prinzipielle Unterschiede im Furchungsablauf. Auch die Temperatur, bei welcher die Hormonlösungen einwirkten, hatte einen Einfluß auf den Ablauf der Furchung.

2. Die zweite wesentliche Frage ist bereits 1943 von Töndury aufgeworfen worden: Wie verhalten sich die Störungen in der Mitose und die Furchungs- und Gestaltungsstörungen zueinander? Besteht ein kausaler Zusammenhang zwischen diesen beiden Erscheinungen oder sind vielmehr beide auf eine gemeinsame Ursache zurückzuführen?

3. Die dritte Frage ist die nach dem Angriffspunkt bzw. nach dem Wirkungsmechanismus der Hormonlösungen.

II. Methodik

Eier von *Triton alpestris* wurden nach dem Ablachen enthüllt und ungeteilt oder im 2-Zellenstadium in verdünnte Oestradiol- bzw. Stilböstrolösung gebracht. Die gewünschten Konzentrationen wurden durch Verdünnen einer einprozentigen alkoholischen Stammlösung mit Brunnenwasser hergestellt: für Oestradiol 1 : 200.000 bis 1 : 1 Million, für Stilböstrol 1 : 300.000 bis 1 : 2 Millionen. Daß die in solchen Lösungen enthaltenen kleinen Alkoholmengen keine wahrnehmbare Wirkung haben, wurde bereits von Töndury (43) nachgewiesen. Es wurden Versuche im Temperaturbereich von 11 bis 30° angestellt, wobei entweder mit Leitungswasser gekühlt oder die höheren Temperaturen im Thermostat erreicht wurden. Die Versuchsdauer betrug 2 bis 10 Stunden. Die Keime wurden anschließend sofort fixiert oder vorher noch eine Zeitlang in Brunnenwasser belassen. Wir beobachteten somit Frühstadien der Entwicklung bis zum 32-Zellenstadium, selten bis zum Morulastadium. Die Vorgänge an der Keimoberfläche, z. B. die Pigmentverschiebungen, waren leicht zu verfolgen und mit den späteren mikroskopischen Befunden zu vergleichen. Mit Hilfe von Farbmarken gelang es ferner, bei einzelnen Keimen gewisse Bewegungsvorgänge an der Oberfläche im Verlauf der abnormen Furchung zu verdeutlichen.

Die Versuche umfaßten 150 Keime, etwa 15 pro Versuchsreihe. Die Keime wurden in Bouin fixiert, die Farbmarkenkeime in Zenker. Einbettung in Paraffin über Menthylbenzoat-Celloidin. Schnittdicke 10 μ , Schnittfärbung nach Feulgen, teilweise Nachfärbung mit Wasserblau. Die Schnitte der Farbmarkenkeime wurden ungefärbt untersucht.

III. Experimenteller Teil

Die allgemeinen Beobachtungen unserer Versuche deckten sich z. T. mit den von Töndury 1943 gemachten. Wir konnten folgende allgemeine Störungen makroskopisch feststellen: Verzögerung der Furchung einzelner Blastomeren oder Furchungsstillstand, Verschwinden von Zellgrenzen und Verschmelzen von Blastomeren, Auftreten von Cysten unter der Zelloberfläche, Pigmentverschiebungen und Unregelmäßigkeiten der Strömungsvorgänge an der Zelloberfläche.

Die Furchungsteilungen verlaufen normalerweise bis zum 32-Zellenstadium synchron (Schönmann 38). An unseren Hormonkeimen konnten wir den Furchungsstillstand einzelner Blastomeren beobachten, und zwar waren die Störungen um so offensichtlicher, je früher eine oder mehrere Blastomeren ihre Teilung einstellten. Der Keim, der in Abb. 1a dargestellt ist (Oestradiol 1 : 200.000, 20°), zeigte erst dreieinhalb Stunden nach Versuchsbeginn im 16-Zellenstadium Ungleichheiten in der Größe der Blastomeren. Bei dem in Abb. 1b dargestellten Keim (Stilböstrol 1 : 300.000, 20°) stellte eine Halbblastomere sofort nach Versuchsbeginn ihre Teilung ein, die andere Halbblastomere teilte sich zwar zunächst weiter, wies jedoch Formunregelmäßigkeiten auf, und ein-

zelne Teilungsfurchen verschwanden wieder. Die beiden beschriebenen Keime stellten Extremfälle einer Störungsreihe dar, in welcher alle Zwischenstufen möglich sind und z. T. auch beobachtet wurden.

Das Verschwinden von Teilungsfurchen wurde namentlich bei höheren Hormonkonzentrationen beobachtet (Stilböstrol 1 : 300.000). Dabei verschmolzen die Blastomeren zu größeren Einheiten, ähnlich wie dies Töndury (46—47) beschrieben hatte (vgl. Töndury 47, Abb. 5). Bei fortlaufender Beobachtung einzelner Keime konnten wir auch die Zwischenstufen dieses allmählichen Verschmelzungsvorganges sehen. Die ursprünglich mehr oder weniger tief einschneidenden Furchen flachten sich ab, die scharfen Trennungslinien wurden undeutlicher, an ihrer Stelle war schließlich nur noch eine etwas dichtere Anhäufung von Pigment zu sehen. Auch diese verwischte sich später, so daß schlußendlich nichts mehr von der früher vorhandenen Furche zu finden war. Bei Keimen, die einer höheren Stilböstrolkonzentration als 1 : 500.000 ausgesetzt waren, konnten wir häufig das Auftreten von cystenartigen Gebilden unmittelbar unter der Zelloberfläche beobachten. Diese Cysten imponierten als unregelmäßig verteilte, oft pigmentumrandete Vorbuchtungen an der Zelloberfläche (Abb. 2). Das Pigment im Bereich der animalen Kappe war bei Hormonkeimen oft unregelmäßig verteilt, z. B. linear verdichtet oder in der Mitte der Blastomeren angehäuft (Abb. 3). Mittels Farbmarkierung gelang es, die Strömungsvorgänge der Keimoberfläche zu verdeutlichen. Dabei zeigte es sich, daß die äußersten Keimschichten sich gegen die Teilungsfurchen zu verschieben, gewissermaßen in sie hineinströmen. Trat Furchungsstillstand ein, dann hörte auch die Oberflächenströmung auf. Wo Furchungsteilungen asymmetrisch verliefen, wurden die Oberflächenströmungen entsprechend der Asymmetrie abgelenkt.

Einfluß der Temperatur auf die Wirkung der Hormonlösungen

Moore (39) hat nachgewiesen, daß die Reaktionsweise von Tritonkeimen auf Temperaturunterschiede je nach Art und Laichperiode eine verschiedene ist. Bevor wir also den Zusammenhang zwischen Hormonwirkung und Temperatur untersuchen konnten, mußten wir zunächst, ohne Hormonzusatz, den Einfluß der Temperatur auf das von uns verwendete Keimmaterial untersuchen. Erschwerend bei der Beurteilung der Resultate war die Tatsache, daß wir den Zeitpunkt der Befruchtung unserer Keime und somit ihres Furchungsbeginnes nicht kannten. Diese kleinen Zeitunterschiede spielten bei der nur kurzen Entwicklungsphase, die wir verfolgten, eine gewisse Rolle. Wir untersuchten deshalb auch künstlich befruchtete Eier, bei welchen wir also den Zeitpunkt des Furchungsbeginnes kannten. Diese Versuche führten jedoch zu keinem eindeutigen Ergebnis, weil die künstlich befruchteten Eier schon unter normalen Entwicklungsbedingungen oft Asymmetrien der Furchung aufwiesen. Fankhauser (25) machte die gleiche Beobachtung an Eiern von Triton taeniatum und führte dies auf Befruchtung durch mehr als 10 Spermien

zurück. Da aus diesen Gründen eine quantitative Auswertung der Versuche nicht möglich war, seien nur die prinzipiellen Ergebnisse angeführt.

Zunächst untersuchten wir Normalkeime ohne Hormonbeeinflussung. Die untere Temperaturgrenze betrug 11°. Hierbei war ein Teil der Eier in seiner Entwicklung bereits stark gehemmt. Der erste Teilungsschritt schien stärker verzögert zu werden als die darauffolgenden. Bei der oberen Temperaturgrenze von 30° geschahen wohl noch einige Teilungsschritte, bald aber erschien der Keim derart geschädigt und verändert, daß die Weiterentwicklung ausblieb. Der Bereich zwischen 20 und 25° schien ein Optimum darzustellen und das Entwicklungstempo war hier am raschesten.

Die Hormonlösungen wurden bei verschiedenen Temperaturen zugesetzt. Hierbei zeigte es sich, daß die Furchungsanomalien, die asymmetrischen Bildungen und der Furchungsstillstand einzelner Blastomeren bei einer Temperatur von 20° am deutlichsten sind. Die Erscheinungen am Exoplasma, Cystenbildungen und Pigmentverschiebungen, waren bei Einwirkung der Hormonlösungen bei höheren Temperaturen (25°) ausgesprochenener.

Aus diesen prinzipiellen Versuchsbeobachtungen durfte man den Schluß ziehen, daß die Temperatur den Zustand des Zellplasmas, am deutlichsten jenen des Exoplasmas, beeinflusste. Seine Permeabilität für Hormonlösungen schien mit steigender Temperatur größer zu werden.

Einfluß der Hormonkonzentration auf die Furchung

Unsere Versuche wurden in einem Konzentrationsbereich von 1 : 300.000 bis 1 : 1 Million (für Stilböstrol) angestellt. Einfache Furchungsstörungen, Asymmetrien und Furchungsstillstand einzelner Blastomeren konnten wir bei allen verwendeten Konzentrationen sehen. Höhere Konzentrationen (1 : 500.000 und mehr) wirkten graduell stärker. Hierbei standen dann aber die Erscheinungen an der Keimoberfläche im Vordergrund, d. h. Cystenbildungen, Verstreichen von Furchen und Verschmelzung benachbarter Blastomeren. Vergleichende Versuche ergaben, daß sich die Keime unter der Einwirkung von Versuchslösungen geringer Konzentration in den meisten Fällen schneller entwickelten als Kontrollkeime, eine zunächst überraschende Beobachtung.

Unsere bisherigen Ergebnisse wichen also nicht von den Beobachtungen Töndurys (43) ab. Die Auswertung der Ergebnisse, besonders die Beurteilung des Einflusses der Hormonlösungen auf die Furchungsgeschwindigkeit, wurde jedoch durch die individuell verschiedene Reaktionsweise der Keime erschwert. Schon Töndury und auch wir sahen im Laufe unserer Versuche, daß verschiedene Keime auf die gleiche Hormonkonzentration verschieden reagierten und daß auch die Teilungsgeschwindigkeit unter gleichen äußeren Bedingungen ziemlich weitgehend variieren konnte. Deshalb wollten wir an ein und demselben Keim die eine Hälfte mit Hormonlösungen beeinflussen, während die andere Keimhälfte im Wassermilieu sich entwickeln und so als Kontrolle dienen sollte. Hierbei war dann die Annahme berechtigt, daß die beiden Keimhälften

eine gleiche individuelle Reaktionsbereitschaft hätten. Angeregt durch die Versuche von Vogt (27) über differenzierte Beeinflussung einer Keimhälfte mit Temperatureinwirkung, konstruierten wir eine Milieudifferenzkammer (Abb. 4):

Eine 0,3 mm dicke Aluminiumwand trennte ein Glaskübelchen in zwei Hälften. Die beiden Kammerhälften wurden mit Paraffin gegeneinander abgedichtet und der Boden bis auf die Höhe eines runden Loches in der Scheidewand ebenfalls mit Paraffin ausgegossen. Dieses Loch hatte den Durchmesser eines Molchkeimes und unter leichtem Druck wurden die Keime im 2-Zellenstadium mit der Furchungsebene entsprechend der Aluminiumwand darin festgeklemt. In einer mit Wasser gefüllten Kammer gelang dies leicht mit Hilfe einer Haarschlinge und unter Erzeugung leichter Druckdifferenzen mittels Pipetten. Eine weitere Fixation des Eies konnte eventuell damit erreicht werden, daß Nadeln in den Paraffinboden neben dem Keim eingestochen wurden. In die eine Kammerhälfte kam die Hormonlösung, in die andere eine stark verdünnte Nilblausulfatlösung, die den dichten Abschluß der beiden Kammerteile anzeigen sollte. Kontrollversuche zeigten, daß bei vorsichtiger Manipulation die mechanische Klemmwirkung keine Entwicklungsstörungen bewirkte, ebensowenig die Nilblausulfatlösung. Ein synoptischer Vergleich der beiden Keimhälften war bei dieser Versuchsanordnung jederzeit möglich und insbesondere war hierbei eine Beurteilung des Einflusses der Hormonlösungen auf das Furchungstempo erleichtert.

Drei Beispiele sollen die bei Versuchen mit der Milieudifferenzkammer gemachten Beobachtungen illustrieren.

Triton alpestris 48/1 wurde im 2-Zellenstadium in die Milieudifferenzkammer eingeführt, die eine Hälfte der Kammer mit Oestradiolösung 1 : 1 Mill., die andere mit Brunnenwasser gefüllt. Entwicklung bei 20°, wobei die Versuchslösungen schon vorher auf diese Temperatur erwärmt worden waren und sich auch die Keime bis dahin bei dieser Temperatur entwickelt hatten. Eine halbe Stunde nach Ansetzen des Versuches war noch keine weitere Furchung sichtbar, doch waren die beiden Halbblastomeren mehr abgerundet. Eine Stunde nach Versuchsbeginn zeigte sich auf der Hormonseite die erste Furchung, während sich die Kontrollhälfte noch nicht weitergeteilt hatte. Nach 2 $\frac{1}{2}$ Stunden hatten sich beide Teile bis zum 8-Zellenstadium weiterentwickelt. Die Weiterfurchung ging nun gleichmäßig vor sich, jedoch fiel eine gewisse Aufhellung der Blastomeren auf der Hormonseite auf. Ebenso schien es, daß die Zellen der Hormonseite im ganzen kleiner waren als die der Kontrollhälfte. Stündlich wurden Hormonlösung und Brunnenwasser abpipettiert und ersetzt. Fixation 6 Stunden nach Versuchsbeginn. Die Hormonseite des Keimes war nicht nur pigmentärmer, sondern die Blastomeren auch kleiner, zahlreicher und etwas unregelmäßig (vgl. Abb. 5 und S. 8). Bei der mikroskopischen Untersuchung der Schnitte wurden diese Beobachtungen bestätigt. Es ergab sich, daß das Pigment auf der Hormonseite nicht auf das Exoplasma beschränkt war, sondern sich bis in das Zellinnere hinein verteilte. An den Mitosen waren die Folgen der Hormonwirkung weniger deutlich. Wir fanden nur einzelne Telophasen mit ungleichmäßiger Chro-

mosomenverteilung, was wohl auf die relativ schwache Konzentration der Hormonlösungen zurückzuführen war.

Triton alpestris 56/1 wurde im 2-Zellenstadium bei einer Temperatur von 25° in eine Milieudifferenzkammer eingebracht, deren eine Hälfte mit Stilböstrolllösung 1 : 300 000 gefüllt war. 2 Stunden nach Versuchsbeginn hatten beide Keimhälften angefangen sich zu teilen. Nach 3½ Stunden zeigte sich bereits ein Rückstand der Hormonseite gegenüber der Kontrollhälfte. Die Zellen waren größer, nicht gleichmäßig abgerundet, weniger zahlreich, ihre Farbe dunkler. Das Pigment war unregelmäßig verteilt, die Zellgrenzen schienen verstrichen. Fixierung nach 8 Stunden. Die mikroskopische Untersuchung der Schnittserien zeigte, daß die Zellen auf der Hormonseite nur unscharf gegeneinander abgegrenzt waren (vgl. Abb. 6). Stellenweise waren die Interzellularwände überhaupt aufgelöst, die Furchen kaum mehr angedeutet. Auf der Kontrollseite sahen wir hingegen gleichmäßig große Zellen mit deutlichen Interzellularwänden und Furchen.

Vergleichen wir die Beobachtungen an T.a. 56/1 mit denen an T.a. 48/1, so sehen wir, wie die höhere Konzentration nicht nur eine stärkere Wirkung ausübt, sondern auch in ihrem qualitativen Ergebnis eine andere ist.

Triton alpestris 65/1 bot ein weiteres Beispiel für eine starke Schädigung. Er wurde im 2-Zellenstadium in die Milieudifferenzkammer eingeführt (Stilböstrol 1 : 300.000, Temperatur 25°). Bereits nach 1 Stunde begann die Weiterteilung beider Keimhälften. Im 4-Zellenstadium, 2½ Stunden nach Versuchsbeginn, zeigten sich auf der Hormonseite verwischte Zellgrenzen. Die Furchen wurden immer undeutlicher, so daß sie nach 6½ Stunden, d. h. am Ende des Versuches, auf dieser Seite ganz verschwunden waren (vgl. Abb. 2). Die hier sichtbaren Cysten traten erst 4 Stunden nach Versuchsbeginn auf. Daß einzelne solcher Cysten auch auf der Kontrollseite sichtbar waren, zeigte an, daß entweder kein absolut dichter Verschuß zwischen den beiden Kammerhälften erreicht worden war, oder eine Diffusion der Hormonlösung im Keiminneren auf die Kontrollseite hinüber stattgefunden hatte. Immerhin war der Unterschied zwischen den beiden Keimhälften noch außerordentlich frappant. Auch das mikroskopische Präparat (Abb. 7) zeigte eine gewisse Unregelmäßigkeit auf der Kontrollseite, doch blieb der Unterschied zur Hormonseite immer noch sehr deutlich.

Mikroskopische Auswertung

Auch im mikroskopischen Bild waren bei den Hormonkeimen Form- und Größenunterschiede der Blastomeren nachzuweisen. Makroskopisch hatten wir die Abschnürung kleinster Zellen beobachtet, die sich mikroskopisch als kernloses Cytoplasma erwiesen.

Wie ein Keim mit aufgelösten Interzellularwänden im mikroskopischen Bild aussieht, wurde schon weiter oben beschrieben (vgl. Abb. 6). An einzelnen Stellen wurden die aufgelösten Interzellularwände nur noch durch Pigmentanhäufungen angedeutet (Abb. 8).

Bei den Kontrollkeimen war das Pigment auf das Exoplasma beschränkt, bei Hormonkeimen dagegen fanden wir es oft diffus auch im Zellinneren verteilt. Auch Blastomeren im Inneren eines Keimes enthielten oft reichlich Pigment. So erweckte der Keim, der Abb. 9 zugrunde liegt, den Eindruck, daß die Pigmentkörner vom Exoplasma her in das Zellinnere hineinströmten und sich dort diffus verteilten. Wiederholt trafen wir in den Schnitten Pigment sogar innerhalb des Teilungsplasma, wo es bei normalen Keimen nie vorkommt. Man hatte also den Eindruck, daß eine sonst bestehende Schranke, die das Einwandern von Pigmentkörnern in Zell- und Keiminneres verhinderte, durch die Hormonbeeinflussung aufgehoben worden war.

Der Zusammenhang zwischen einzelnen Blastomeren war bei den Hormonkeimen viel lockerer als bei gleich fixierten Kontrollen. Stellenweise handelte es sich um eine eigentliche „Individualisierung“ der Blastomeren. Diese besaßen, besonders wenn sie im Keiminneren lagen, ein stark pigmenthaltiges Exoplasma, dem offenbar die starke Klebrigkeit fehlte, die sonst im Keiminneren gelegenes Plasma auszeichnet. Infolge dieses mangelnden Zusammenhanges der Blastomeren entstanden Spalträume, um die herum die Zellen schalenartig angeordnet sein können. Beim Keim, welcher Abb. 10 zugrunde liegt, sahen wir außerdem, wie dieser Innenraum am oberen Pol durch eine „Plasmahaut“ begrenzt war. Es handelt sich um eine membranartig ausgebreitete Cytoplasmaschicht, die mit der äußersten Schicht der benachbarten oberflächlichen Blastomeren zusammenhing. Es schien somit um den gesamten Keim eine oberflächliche Plasmahaut zu liegen, die mit der „surface-coat“ Hultfreeters (43) vergleichbar ist.

Die früher beschriebenen bläschenartigen Gebilde an der Keimoberfläche erwiesen sich im Schnitt als Hohlräume innerhalb des Zellplasmas, deren Wand meist pigmentreich war. Die Cysten an der Keimoberfläche machten jedoch nur einen kleinen Teil aller Hohlräume aus, die sich im Plasma der Hormonkeime ausgebildet hatten. Auf den Schnitten sah man manchmal geradezu groteske Bilder von Keimen, die im Inneren ganz von solchen Hohlräumen durchsetzt waren. Der in Abb. 11 dargestellte Keim (Stilböstrol 1 : 1 Million) wurde 8 Stunden nach Versuchsbeginn fixiert, äußerlich fielen nur die Größenunterschiede der Blastomeren auf, während sein Inneres ganz von pigmentumrandeten Cysten durchsetzt war. Ein Keim aus einer Milieudifferenzkammer zeigte schon in der Aufsicht (vgl. Abb. 2) Cystenbildung, die auch im mikroskopischen Bild (Abb. 7) zu sehen war.

Kernverhältnisse

Die Hormonlösungen wirkten nicht nur auf das Plasma, sondern auch auf Kern, Chromosomen und Teilungsapparat der Zellen ein.

Mitosestörungen: Die Umwandlung der Kerne in Chromosomen schien durch die Hormonlösungen oft erschwert zu sein. In Abb. 12 sind nebeneinander ein normaler Kernabschnitt, eine aufge-

lockerte und fädige Partie und daneben noch einzelne Chromosomen sichtbar, welche z. T. verklumpt sind. So weitgehende Störungen der Kernstruktur haben wir nur bei Keimen, die höheren Hormonkonzentrationen ausgesetzt worden waren, beobachtet (Stilböstrol von 1 : 500.000 an). Die normalen Chromosomen von *Triton alpestris* (diploid 24) sind lang, schlank und zeigen meist in der Mitte eine Einkerbung, die Spindelfaseransatzstelle. Bei den Hormonkeimen entsprachen die Chromosomen oft in Zahl, Form und Struktur nicht den normalen Vergleichsobjekten. Neben strukturierten Chromosomen lagen oft im Teilungsraum körnerartige chromatische Gebilde, die dann kaum mehr als Chromosomen bezeichnet werden konnten, sondern eher kleinste Kernfragmente darstellten (vgl. Abb. 13).

Die *Prophase* wies in unseren Versuchen nie Störungen auf.

In der *Metaphase* war die Bildung der Äquatorialplatte oft erschwert. Die Chromosomen lagen dann im Teilungsraum ungeordnet durcheinander (vgl. Abb. 13) und es konnten auch Riesenäquatorialplatten beobachtet werden. Der Spindelapparat war manchmal unregelmäßig ausgebildet, die Spindelfasern selbst sahen wie fragmentiert aus. Wir konnten auch pluripolare Mitosen beobachten, so wie sie *Politzer* (34) beschrieb. Diese Störungen des Spindelapparates können vielleicht die Ursache der beobachteten Chromosomenabsprengungen sein (vgl. Abb. 14a), oder aber diese letzteren sind durch eine Schädigung der Spindelfaseransatzstelle am Chromosom bedingt, so wie dies *v. Möllendorff* (39) bei seinen Beobachtungen an Fibrocytenkulturen annahm.

In der *Anaphase* war das Auseinanderweichen der Tochterkerne manchmal durch Chromosomenverklebungen gestört (Abb. 14b). Dadurch konnte entweder eine unregelmäßige Verteilung der Chromosomen auf die Tochterkerne bewirkt werden (Abb. 15) oder es blieb zwischen ihnen eine Chromatinbrücke bestehen. Solche als Pseudoamitose bezeichnete Fälle hat *Töndury* (42) beschrieben (vgl. seine Abb. 23—24). Es entstanden auf diese Art hantelförmige Kerne (vgl. Abb. 16a), die nicht von Kernen zu unterscheiden waren, die durch Amitose (also ohne Bildung von Chromosomen) und Abschnürung diese Form erreicht hatten. Auch *Fankhauser* (25) beschrieb Bilder von fraglichen Amitosen von polysperm befruchteten Tritoneiern. Seine Abb. 17 zeigt zwei Kernteile, die durch eine langgestreckte Chromatinbrücke verbunden sind. Das Vorhandensein von zwei Kernen in einer Zelle (vgl. Abb. 16b) könnte so gedeutet werden, daß Chromosomenverklebungen eine Trennung der Tochterkerne verspätet ermöglichten, wodurch beide Kerne in eine Zelle zu liegen kamen. Die Beobachtung von Riesenkernen ließ an die Möglichkeit denken, daß eine Verteilung von Chromosomen auf zwei Tochterkerne wegen Verklebungen oder Insuffizienz des Spindelapparates überhaupt nicht zustande kam und daß aus der Mitose ein neuer Ruhekern mit verdoppeltem Chromosomensatz entstanden war. Auch die Möglichkeit einer Vermehrung der Chromosomenzahl durch Endomitose muß erwähnt werden. Wir konnten jedoch bei Chromosomenüberschuß kein Bestehenbleiben der Kernmembran beobachten.

Ruhekernstörungen. Zum Teil als Folge der beschriebenen Mitosestörungen, z. T. auch als direkte Einwirkung der Hormonlösungen sind Störungen im Aussehen des Ruhekernes zu deuten. Der normale Ruhekerne von *Triton alpestris* zeigt eine manchmal gelpappte Form, ein gleichmäßig dichtes Chromatingerüst und nur einen Nucleolus. Bei den Hormonkeimen war der Ruhekerne oft stark eingeschnürt und von sehr unregelmäßiger Form. Sein Chromatingerüst sah entweder dicht und verklumpt aus (Abb. 17) oder es konnte stark aufgelockert sein, wodurch die Kerne ein wabiges oder fädiges Aussehen erhielten (Abb. 18). Die oft sehr weitgehende Abnahme der Dichte solcher Kerne, die manchmal die Feulgenfärbung kaum mehr annahmen, legte die Vermutung nahe, daß dieser Vorgang bis zur völligen Auflösung des Kernes führen kann. Von Lüscher (45) konnte dies an Tubifexeiern in vivo bei Stilböstrol-einwirkung beobachtet werden (vgl. S. 15).

IV. Diskussion der Ergebnisse

Ziel unserer Versuche war es, den Einfluß von Oestradiol und Stilböstrol auf die Furchung von Tritoneiern zu untersuchen, unter besonderer Berücksichtigung der Wirkung der Konzentration und der Temperatur. Um gewisse individuelle Unterschiede in der Reaktionsweise der einzelnen Keime als Fehlerquelle auszuschalten, stellten wir Versuche in einer Milieudifferenzkammer (vgl. S. 9 und Abb. 4) an, wobei nur eine Keimhälfte beeinflußt wurde und die andere als Kontrolle dienen konnte.

Wir beobachteten in dem ganzen angewendeten Konzentrationsbereich Störungen der Mitose, besonders der Metaphase und Anaphase sowie Verklebung und Absprennung von Chromosomen und Verklumpung und Auflösung von Ruhekernen. Bei Hormonkonzentrationen von über 1 : 500.000 (Stilböstrol) zeigten sich außerdem Veränderungen des Zellplasma. Die Blastomeren wiesen Größenunterschiede auf, unscharfe Begrenzung und z. T. verschmolzen einzelne wieder sekundär. Das Pigment war oft unregelmäßig verteilt. Die Veränderungen am Zellplasma deuteten auf eine Beeinflussung des Viscositätszustandes durch die Hormonlösungen hin. Die auf S. 7 beschriebenen cystenartigen Bildungen sind vergleichbar mit den von Töndury (45) beobachteten hydropischen Vacuolen sowie mit Hubers (45) Vacuolenbildung bei mit Phenanthrenchinon behandelten Tubifexeiern.

Aus diesen Versuchsergebnissen stellten sich folgende Punkte zur Diskussion: a) Einfluß der Hormonlösungen auf die Viscosität des Cytoplasma, b) Vergleich der Wirkung der von uns verwendeten Hormonlösungen mit der Testosteronwirkung (Töndury, 41), c) Zusammenhang zwischen Störungen des Plasma und des Mitosegeschehens, d) Auswirkung der Teilungsstörungen auf das spätere Wachstum des Keimes, e) Rolle des Kernes bei der Zellteilung und schließlich f) Wirkungsmechanismus der Hormonlösungen.

a) Zum Einfluß der Hormonlösungen auf die Viscosität des Plasma.

S. R a n z i und Mitarbeiter (46) beschrieben den Einfluß gewisser Substanzen, wie z. B. LiCl und Na_2SO_4 auf den Viscositätsgrad von Preßsaft junger Gastrulae von *Rana*. Dabei stellten sie fest, daß Substanzen, die die Viscosität des Preßsaftes in gleicher Art verändern, im Entwicklungsexperiment am lebenden Ranakeim Mißbildungen bewirken, die untereinander gleichartig sind. So wird z. B. die Viscosität des Preßsaftes sowohl durch LiCl als durch Na_2SO_4 erhöht, und diese beiden Substanzen verursachen in Versuchen am lebenden Froschkeim die gleiche mikrocephale Mißbildung. Die Veränderung der Viscosität hängt weitgehend von der Konzentration des angewandten Stoffes ab, Thiocyanat z. B. setzt die Viscosität, wenn es in geringen Konzentrationen angewandt wird, herab, in höheren Konzentrationen jedoch wird sie erhöht. Beobachtungen von Pigmentstrahlungen in Blastomeren von Tritoneiern, die der Wirkung von Stilböstrol ausgesetzt worden waren, führten T ö n d u r y (41) zum gleichen Rückschluß, indem solche Strahlungen als Ausdruck örtlicher Gelbildung nur unter der Wirkung starker Konzentrationen vorkamen. Auch das Auftreten von Cysten, die Pigmentverschiebungen in das Zellinnere und das Auflösen von Teilungsfurchen wiesen in unseren Versuchen auf Viscositätsveränderungen hin.

b) Vergleichen wir die Wirkung weiblicher Hormone und von Testosteron (T ö n d u r y, 41) auf die Entwicklung von Amphibieneiern, so läßt sich feststellen, daß die weiblichen Hormone stärker wirksam sind, eine größere Penetrationsfähigkeit besitzen, und daß sie schon in die ersten Furchungsstadien eingreifen. Die männlichen Hormone hingegen wirken langsamer, sie stören erst später und weniger stark die Entwicklung der Tritonkeime. Die Furchung verläuft normal, und erst die Neurulationsvorgänge sind verlangsamt und gestört. Die Neuralplatten sind schmal, der Schluß des Neuralrohres erschwert, und es können Asymmetrien bis zu Halbseitenbildungen entstehen. Diese haben eine andere Genese als die Halbseitenkeime bei unseren Versuchen. Die halbseitigen Veränderungen unserer Hormonkeime aus den Milieudifferenzkammern können eher mit den Temperaturdifferenzversuchen von V o g t (27) verglichen werden. Die Alterschimären V o g t s entstanden ebenso wie unsere Halbkeime durch verschiedenartige Beeinflussung der beiden Hälften desselben Keimes. Bei den Testosteronversuchen T ö n d u r y s hingegen war der ganze Keim denselben Bedingungen ausgesetzt. Da sich hier die asymmetrischen Bildungen auf die Neurulation bezogen, war es naheliegend, anzunehmen, daß sie durch selektive Beeinflussung eines Organisatorbezirktes zustande kamen, und nicht durch direkte Einwirkung auf das organisierte Material. Auch Th. S. H a l l (42) führte die Entstehung mikrocephaler Keime bei der Einwirkung von LiCl auf eine Beeinflussung des Organisators zurück, nicht sosehr auf eine Veränderung des organisierten Materials.

c) Zusammenhang zwischen Störungen des Plasma und des Mitosegeschehens. Durch die verwendeten Hormonlösungen wird auch das chromatische Material der Zelle angegriffen. Über Mitosestörungen in den Versuchen von v. M ö l l e n d o r f f (39—41), T ö n d u r y (41 und 43)

und in den eigenen Versuchen wurde eingehend berichtet. L ü s c h e r (45) untersuchte die Wirkung von Colchicin und von weiblichen Sexualhormonen auf Tubifexeier in vivo. Bei Colchicin stellte er fest, daß es selbst in Konzentrationen von 1 : 1000 langsam in die Zelle eindringt. Ist die Teilungsspindel schon ausgebildet, dann übt es eine unmittelbar fördernde Wirkung auf die Mitose aus. Diese läuft dann rascher ab. Der Ruhekern jedoch wird pyknotisch und mit der Zeit aufgelöst. Stilbööstrol hingegen (1 : 300.000) dringt rasch ein. Die Spindel wird zwar gebildet, die Fasern sind jedoch wirr und aufgelockert (vgl. S. 12), die Chromosomen liegen verstreut im Teilungsraum. Später zerfallen sie zu Körnchen und lösen sich schließlich ganz auf.

Auch bei Pflanzenzellen zeigen sich Folgen der Hormoneinwirkung. F a l l e r (42) stellte bei den Meristemzellen der Wurzelspitzen von Feuerbohnen fest, daß Methyltestosteron und Oestradiol die Bildung der Äquatorialplatten stören und Aberrationen von Chromosomen verursachen. Außerdem beobachtete F a l l e r, daß aberrierende Chromosomen häufig die Feulgenfärbung nur schwach annahmen, und er zog daraus den Schluß, daß solche Chromosomen aufgelöst werden. Auch v. M ö l l e n d o r f f (39) nahm an, daß die abgesprengten Chromosomen aufgelöst werden und damit für den Genbestand der Zellen verlorengehen. Die Häufigkeit der Absprengung nahm bei längerer Hormonwirkung nicht zu. Aus dieser Beobachtung, die ebenfalls aus den Versuchen v. M ö l l e n d o r f f s, T ö n d u r y s und unseren eigenen hervorgeht, zog F a l l e r den Schluß, daß der gestörte Teilungsmechanismus nicht als solcher auf die Tochterzellen übertragen wird, sondern daß es sich vielmehr bei jeder geschädigten Zelle um die unmittelbare Wirkung der Schädigung durch die chemischen Substanzen handelt. Auch H u b e r (45) fand bei der Einwirkung von Phenanthrenchinon auf Tubifexeier, daß die Kerne in Brocken aufgespalten und das Chromatin aufgelöst wird. Wir machten ähnliche Beobachtungen, jedoch konnten wir ebensowenig wie H u b e r in jedem Falle mit Sicherheit entscheiden, ob wir primär kernlose Plasmaabschnürungen vor uns hatten, oder ob in kernhaltigen Zellen der Kern selber sekundär aufgelöst worden war. Jedenfalls schienen beide Möglichkeiten gegeben zu sein.

Aus dem bisher Gesagten geht also hervor, daß die Hormone auf verschiedene Zellarten ähnlich einwirken. Unterschiede zeigten sich beispielsweise darin, daß die Empfindlichkeit der Zellen eine verschiedene war, wobei sich Fibrocytenkulturen als weniger empfindlich erwiesen. Weiterhin zeigte sich gerade in der Gewebekultur praktisch keine Wirkung auf das Zellplasma, während Tritonkeime starke Plasmaschädigungen erkennen ließen. Das Vorwiegen der Wirkung auf das Cytoplasma oder die Kernstruktur benutzte L e h m a n n (45), um eine Gruppe von Substanzen, die in erster Linie das Cytoplasma angreifen (er nennt sie die inhibativen Antimitotica), einer anderen Gruppe von Stoffen gegenüberzustellen, die v. a. den Kernapparat zerstören (destruktive Antimitotica). Zu diesen letzteren rechnet L e h m a n n neben Colchicin und Phenanthrenchinon das von uns verwendete Stilbööstrol. Die Wirkung dieser

Gruppe von Antimitotica besteht in erster Linie in einer Zerstörung des Kernapparates, wobei auch die Gelstrukturen der Asteren und des Spindelapparates direkt angegriffen werden. In unseren Versuchen wurden bei schwächeren Hormonkonzentrationen die Rinde und das Endoplasma nicht stark geschädigt. Es konnten deshalb noch Zellabschnürungen stattfinden, selbst wenn die Kerne stark verändert waren. Bei höherer Konzentration jedoch trat zu der im Vordergrund stehenden destruktiven Wirkung des Stilböstrols auf die Kernstruktur auch noch eine inhibitive Wirkung auf das Cytoplasma im Sinne L e h m a n n s hinzu. Die erwähnten Furchungsstörungen, Vacuolenbildungen, Zellwandauflösungen usw. waren Beispiele hierfür. Auch T ö n d u r y (43) betonte, daß das Hormon die Plasmastruktur stark schädigt, so daß die Zusammenarbeit von Kern und Plasma gestört ist. Eine Teilung und Entwicklung von Kernen ohne Teilung des Zelleibes und umgekehrt ist also durchaus möglich. Schon Th. B o v e r i (1895) hatte in klassischen Versuchen nachgewiesen, daß eine Entwicklung kernloser Seeigelleier möglich ist. F a n k h a u s e r (25) stellte Furchungsanomalien bei polysperm befruchteten Tritoneiern fest und konstatierte, daß überzählige Strahlungen sich teilen können und daß zwischen kernlosen Strahlungen vollständige Furchen einschneiden, die dann zur Bildung kernloser Zellen führen (vgl. S. 7). D a l c q und S i m o n (32) behandelten Spermien von *Rana esculenta* mit Trypaflavin. Nach der Befruchtung entfernten sie den Keimfleck und konnten dann z. T. die Bildung von Halbblastomeren feststellen, die jedoch kernlos waren. Die Entstehung kernloser Zellen ist auch von uns im Sinne der beschriebenen Plasmaabschnürungen (vgl. S. 10) beobachtet worden. Dies alles weist darauf hin, daß das Plasma selber die Potenz zur Teilung hat, die Teilung der Zelle also nicht eine bloße Folge der Kernteilung ist, sondern sich unter gewissen Bedingungen selbständig abwickeln kann. Im Normalgeschehen ist sie jedoch zeitlich mit der Kernteilung koordiniert und wird unter Umständen von ihr gesteuert. T ö n d u r y (41) zeigte, daß Gestaltungsvorgänge, welche unter normalen Bedingungen einheitlich und in gesetzmäßiger zeitlicher und örtlicher Verknüpfung ablaufen, unter dem Einfluß von Testosteron in Teilvorgänge zerlegt werden können. F a n k h a u s e r (29) faßte diese Ergebnisse folgendermaßen zusammen: „Die Lebensfähigkeit und das Teilungsvermögen einer Furchungszelle ist bis zu einem vorgerückten Blastulastadium davon unabhängig, ob sie einen Kern enthält oder nicht. Der Kern kann also bis zu diesem Zeitpunkte keine entscheidende Rolle in der Entwicklung spielen.“ Diese Erscheinung meinte T ö n d u r y (43), wenn er von einer gestörten Zusammenarbeit von Plasma und Kern sprach. Auch L e h m a n n (47) schrieb in einer Arbeit über die chemische Beeinflussung der Zellteilung von einer „Dissoziation“ des Mitosegeschehens in die Leistung des Kernapparates und die des Plasmasystems durch chemische Mittel.

d) Auswirkung der Teilungsstörungen auf das Wachstum der Keime. In unseren Versuchen war es erstaunlich festzustellen, wie weit Keime, deren Kernstruktur z. T. ganz bedeutend geschädigt war, sich dennoch an-

fangs normal entwickeln konnten. v. Möllendorff (39) rechnete die Steroide und insbesondere die Sexualhormone deshalb zu denjenigen Stoffen, die in der Gewebekultur die Wachstumsrate und scheinbar den Mitosekoeffizienten nur wenig beeinflussen. Auch Töndury (41) fand bei den Testosteronversuchen eine deutliche Verzögerung der Entwicklung erst bei älteren Gastrulae. Obgleich schon früher Kernteilungsanomalien zu sehen waren, wirkten sich diese erst später im Sinne einer Entwicklungshemmung aus. Faller (42) stellte bei seinen mit Hormonlösungen behandelten Feuerbohnenwurzeln erstmals nach einigen Tagen eine Wachstumshemmung fest. Er meinte, dies könne dadurch bewirkt sein, daß durch immer erneute Absprengung von Chromosomen immer mehr Zellen über einen verminderten Chromosomensatz verfügten und die Teilung deshalb einstellten. Dies wirkte sich auf das Gesamtwachstum im Sinne einer Hemmung aus. Auch Töndury (41) gab an, daß auf der zurückgebliebenen Seite seiner Halbembryonen immer weniger Mitosen vorhanden waren als auf der weiterentwickelten Seite, wenn auch der Prozentsatz an pathologischen Mitosen derselbe war. All diese Beobachtungen sprachen dafür, daß die Störungen der Kernteilung nicht unmittelbar auf die Gestaltungsvorgänge sich auswirkten, sondern daß sie nur eine früher oder später einsetzende Bremsung der Entwicklung bewirkten. Diese verursachte ein Zurückbleiben des Gesamtorganismus oder eines Teiles desselben, welch letzteres sich als Asymmetrie oder als Mißbildung äußerte. Die Tendenz zum Ganzen war also unabhängig vom Einzelvorgang doch vorhanden.

In den Versuchen mit der Milieudifferenzkammer zeigten sich in frühesten Stadien keine wesentlichen Größen- und Formunterschiede, ausgenommen in den Fällen stärkster Plasmaschädigungen durch die Hormonlösungen. Später erst waren Unterschiede zu sehen und es wurde bereits auf S. 8 von der zunächst überraschenden Beobachtung berichtet, daß die Hormonseite bei niedrigen Konzentrationen eine beschleunigte Entwicklung aufwies. Diese scheinbar widersprechenden Befunde führten wir auf eine Veränderung der Viskosität des Plasma auf der Hormonseite zurück. Dies äußerte sich auch in Pigmentstörungen. Die Zellteilung könnte durch geringere Viskosität erleichtert und beschleunigt werden und es würde dann die gesamte Zelle rascher wieder in einen Funktionszustand gelangen, der eine nächste Teilung ermöglichen würde. Hierdurch wäre eine raschere Folge der Teilungsschritte möglich und dadurch eine Beschleunigung der Entwicklung.

e) Es stellt sich nun noch die Frage, was der Kern in dem Gestaltungsgeschehen überhaupt für eine Rolle spielt. Daß seine Funktion nicht an die Erhaltung der Chromosomenstruktur gebunden sein konnte, ging daraus hervor, daß sich die Zelle wenigstens während einiger Zeit selbst dann noch weiter teilte, wenn stärkste Veränderungen der Chromosomen und der Kernstruktur vorhanden waren. Dalcq und Simon (32) erklärten diese Erscheinungen so, daß sie das Hauptgewicht auf den chemischen Austausch zwischen chromatischer Substanz überhaupt (also unabhängig von ihrer morphologischen Struktur) und dem Cytoplasma legten.

Fehlt einer Zelle jegliches chromatische Material, so teilt sie sich dennoch solange weiter, bis die noch vorhandenen Enzyme und Stoffwechselprodukte aufgebraucht sind. Wieviele Teilungsschritte hierbei noch möglich sind, dürfte je nach dem untersuchten Material variieren. Für die von Dalcq und Simon untersuchten Anureneier waren es nur 1 bis 2 Teilungsschritte. Diese Autoren schrieben also den Chromosomen eine nichtspezifische Bedeutung zu, die an den chemischen Aufbau des Chromatins als solches gebunden ist, wenigstens soweit es sich um die Furchungsvorgänge handelt.

Wenn wir also die bisher angeführten Beobachtungen zusammenfassen, so bekommen wir den Eindruck, daß die Gestaltungsvorgänge beim Molchkeim aus einer Reihe von parallellaufenden, zeitlich koordinierten Einzelvorgängen bestehen. Diese sind gemeinsam auf das Ziel gerichtet, den Gesamtorganismus zu schaffen, und können wenigstens teilweise unabhängig voneinander diesem Ziele zustreben. Somit ist eine ziemlich weitgehende Störung der Kernteilung und der Chromosomenverteilung auf die Tochterkerne möglich, ohne daß die Teilung des Plasmamaterials wesentlich gestört wird. Die Beziehung zwischen den Einzelvorgängen ist eine elastische, und erst wenn eine beträchtliche Diskrepanz zwischen dem Entwicklungsstadium der Kerne und dem des Plasma besteht, wirkt sich dieser Unterschied in der Gesamtentwicklung störend aus. Je komplexer die funktionellen Leistungen sind, die der sich entwickelnde Organismus vollbringen muß, desto größer wird die Notwendigkeit der Koordinierung der Einzelvorgänge sein. Daher werden Mängel des Keimes oft im Stadium der Gastrulation manifest, wo ein eigentlicher Sprung zu komplexeren Leistungen gemacht wird. Somit müssen wir die Frage nach dem Zusammenhang von Kern- und Plasmastörungen in unseren Versuchen dahin beantworten, daß beide anfänglich die unabhängige Folge chemischer Einflüsse durch die Hormonlösung sind, daß sich aber mit der Zeit auch die Schädigungen des chromatischen Apparates auf die Furchungsvorgänge störend auswirken.

f) Der letzte Punkt, der noch zu diskutieren ist, wäre die Frage nach dem Wirkungsmechanismus der Hormonlösungen. Zunächst stellen wir fest, daß chemisch verschiedenartig struktuierte Substanzen ähnliche Störungen hervorrufen. Die Gemeinsamkeit der Wirkung legt die Vermutung nahe, daß all diese Substanzen einen gemeinsamen chemischen Angriffspunkt haben. Peters (45) spricht von der „lésion biochimique“ (nach Bacq, 46, zitiert). Daß die von uns untersuchten Substanzen v. a. die in Mitose begriffenen Kerne schädigen, hat seine Ursache wohl in einer besonderen chemischen Beschaffenheit dieser letzteren. Lehmann (47) nahm an, daß die teilungsbereiten Gewebe sich in biochemischer Hinsicht vom ruhenden Gewebe unterscheiden und somit eine andersartige chemische Empfindlichkeit besitzen. Es ist also zu erwarten, daß gewisse Stoffe die Leistungen des teilungsbereiten Gewebes tiefgreifend hemmen, ohne aber die Tätigkeit mitosearmen Gewebes wesentlich zu verändern. Physiologisch-chemische Untersuchungen, z. B. die von Caspersson (39) und die von Brachet (44) in seinem Buche

zusammenfassend dargestellten, lenken die Aufmerksamkeit auf die Rolle der Nucleinsäure im Mitosegeschehen. So findet eine Nucleinsäureanreicherung in den Chromosomen während der Anaphase statt. Bodenstein (48) wies nach, daß gewisse Störungen der Mitose durch Senfgasabkömmlinge parallel gingen zu einer gestörten Synthese von Desoxyribonucleinsäure. Cagianut (49) bearbeitete die Frage des Wirkungsmechanismus von Hormonlösungen besonders bei Tritonkeimen. Er hatte zu diesem Zweck Hormonkeime mit Pyronin gefärbt und untersuchte sie mikroskopisch. Durch das Pyronin wurde selektiv die Ribosenucleinsäure angefärbt. Es war dadurch möglich festzustellen, daß die Verteilung der Ribosenucleinsäure gegenüber normalen Kontrollkeimen sowohl in der Ruhe als auch in der Teilungsphase gestört war. Die Wirkung der Hormone schien dabei eine direkte zu sein, da Zugabe von Nucleinsäure zu den Hormonlösungen deren Wirksamkeit herabsetzte oder aufhob. Somit geht aus Cagianuts Versuchen hervor, daß gewisse Steroide infolge ihrer strukturellen Eigenart auf den Nucleinsäureauf- und -abbau einwirken.

V. Zusammenfassung

Wir untersuchten die Wirkung von weiblichen Sexualhormonen auf die Furchung von Tritoneiern. Zur Ausschaltung der individuellen Unterschiede in der Reaktionsweise der Keime versuchten wir in einer Milieudifferenzkammer die halbseitige Hormonbeeinflussung eines Keimes unter Verwendung der anderen Keimhälfte als Kontrolle.

Drei Fragen bedurften der Abklärung: 1. die Rolle der Konzentration und der Temperatur bei der Beeinflussung der Eier durch Hormonlösung. 2. Zusammenhang von Kern- und Furchungsanomalien. 3. Wirkungsmechanismus der Hormonlösungen.

Untersucht wurden frühe Entwicklungsstadien von Eiern von Triton alpestris bis zum 32-Zellenstadium. Hormonkonzentrationen von 1:300.000 bis 1:1 Mill. Temperaturen von 11 bis 30°. Die Versuche umfaßten einfache Beeinflussung der Keime durch Hormonlösungen, Farbmarkierung einzelner Keime zur Verdeutlichung der Vorgänge an der Keimoberfläche und schließlich Versuche in der Milieudifferenzkammer.

Die beobachteten Störungen waren: unregelmäßige Größe und Form der Blastomeren, Verstreichen der Furchen, Verschmelzen einzelner Blastomeren, Cystenbildung an der Oberfläche und in der Tiefe sowie Unregelmäßigkeiten in der Pigmentverteilung. Hierbei bewirkten höhere Konzentrationen ausgesprochenere Störungen am Zellplasma, auch höhere Temperaturen wirkten in diesem Sinn. Wie besonders Versuche in der Milieudifferenzkammer zeigten, beschleunigten niedere Hormonkonzentrationen die Entwicklung der Keime.

Die Kerne zeigten ebenfalls verschiedenartige Störungen: Pyknose, Abschnürung von Kernteilen, Kernzerfall und Auflösen der Kerne zu fädigwabigen Strukturen. Die Chromosomen waren z. T. verklumpt,

z. T. kamen Chromosomenabsprengungen und -verklebungen vor. Riesen-äquatorialplatten und pluripolare Mitosen ergänzten die mannigfaltigen Befunde. Spindelapparat und Centriolen erschienen teilweise undeutlich, teilweise fehlten sie ganz.

Die Frage nach dem Zusammenhang der Furchungsanomalien und der Kernteilungsstörungen wurde so beantwortet, daß es sich um zwei isoliert voneinander bewirkbare Phänomene handelte, die sich aber gegenseitig beeinflußten, sobald sie einen stärkeren Grad erreicht hatten. Die Wirkungsweise der Hormonlösungen geht über den Nucleinsäurestoffwechsel der Zellen.

VI. Literaturverzeichnis

Bacq Z. M.: Exp. 2 (46) — Belekradek: Protopl. Monogr. — Boveri Th.: Arch. f. Entw. mech. 2 (95) — Brachet J.: Embryologie chimique, Masson Paris (44) — Bodenstein: J. Exp. Zool. (48) — Bucher O.: Zeitschr. f. Zellf. 29 (39) — Schweiz. med. Wschr. 70 (40) — Cagianut: Zeitschr. f. Zellf. (49) — Caspersson T.: Chromosoma 1 (39) — Dalcq und Simon: Protoplasma 14 (32) — Faller A.: Zeitschr. f. Zellf. 32 (42) — Fankhauser: Arch. f. Entw. mech. 105 (25) — Rev. Suisse Zool. 36 (29) — Hall Th. S.: J. Exp. Zool. 89 (42) — Holtfreter J.: J. Exp. Zool. 93 (43) — Huber W.: Rev. Suisse Zool. 52 (45) — Rev. Suisse Zool. 54 (47) — Krantz H.: Zeitschr. f. Zellf. 28 (38) — Lehmann F. E.: Rev. Suisse Zool. 52 (45) — Exp. 3 (47) — Lüscher M.: Rev. Suisse Zool. 52 (45) — v. Möllendorff W.: Zeitschr. f. Zellf. 27 (38) — Klin. Wschr., Jahrg. 18 (38—41) — Zeitschr. f. Zellf. 29 (39) — Schweiz. med. Wschr. 71 (41) — Zeitschr. f. Zellf. 32 (41) — Morgan Th.: Experim. Embryol., New York (27) — Moore J. A.: Ecology 20 (39) — Peters (nach Bacq zitiert): (45) — Politzer G.: Verh. Zool. Bot. Ges. in Wien, 74 (26) — Protoplasma Monogr. 7 (34) — Ranzi S.: Exp. 2 (46) — Schönmann W.: Arch. f. Entw. mech. 138 (38) — Sorokina M.: Arch. f. Entw. mech. 35 (12) — Spemann H.: Arch. f. Entw. mech. 12 (01) — Arch. f. Entw. mech. 15 (02) — Arch. f. Entw. mech. 16 (03) — Experimentelle Beitr. zu einer Theorie der Entw. (36) — Töndury G.: Arch. f. Entw. mech. 141 (41) — Arch. f. Entw. mech. 142 (43) — Verh. Schweiz. naturf. Ges. 46 (46) — Acta Anat. 4 (47) — Vogt W.: Verh. Anat. Ges. im Anat. Anz. Ergh. 1927 (27) — Anat. Anz. Ergh. 63 (28) — Verh. Dtsch. Zool. Ges. 28 (28) — Ergh. Anat. Anz. 66 (28) — Woker: Rev. Suisse Zool. 51 (44).

Lebenslauf

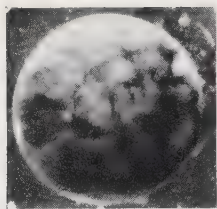
Am 23. Juli 1925 wurde ich in Bern als ältester Sohn des reformierten Kaufmannes Hans Mumenthaler und der Lydia, geb. Piccoli, geboren. Als Auslandschweizer verbrachte ich meine Jugendjahre in Italien, wo ich in Mailand die Deutsche Oberschule besuchte. Dort legte ich 1943 die Reifeprüfung ab.

Im Herbst 1943 begann ich in Zürich das Medizinstudium und bestand dort 1944 das erste und 1946 das zweite Propaedeuticum. Die klinischen Studien absolvierte ich z. T. in Zürich, z. T. in Paris und Amsterdam, und schloß sie in Basel mit dem Staatsexamen im Frühjahr 1950 ab.

**Zur Beeinflussung der Furchung von Molcheiern
durch weibliche Sexualhormone**

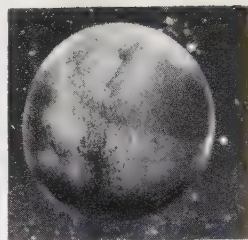
Halbseitenbeeinflussung

ABBILDUNGEN



a)

Abb. 1a-b. Furchungsunregelmäßigkeiten bei Hormonkeimen, a) Größenunterschiede der Teilblastomeren, b) Furchungsstillstand einer Halbblastomere und verwischte Zellgrenzen.



b)

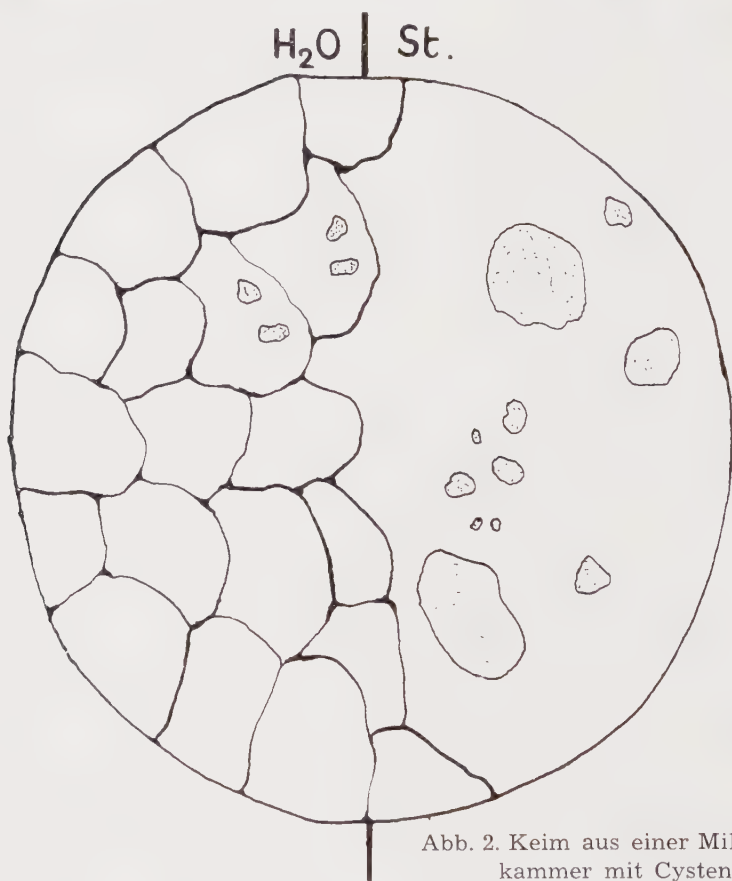


Abb. 2. Keim aus einer Milieudifferenzkammer mit Cystenbildung.

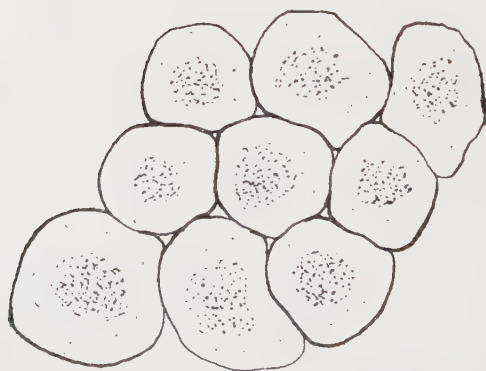


Abb. 3. Pigmentanhäufung in der Mitte der Blastomeren.

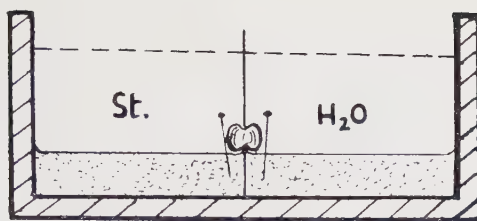


Abb. 4. Schnitt durch eine Milieudifferenzkammer.

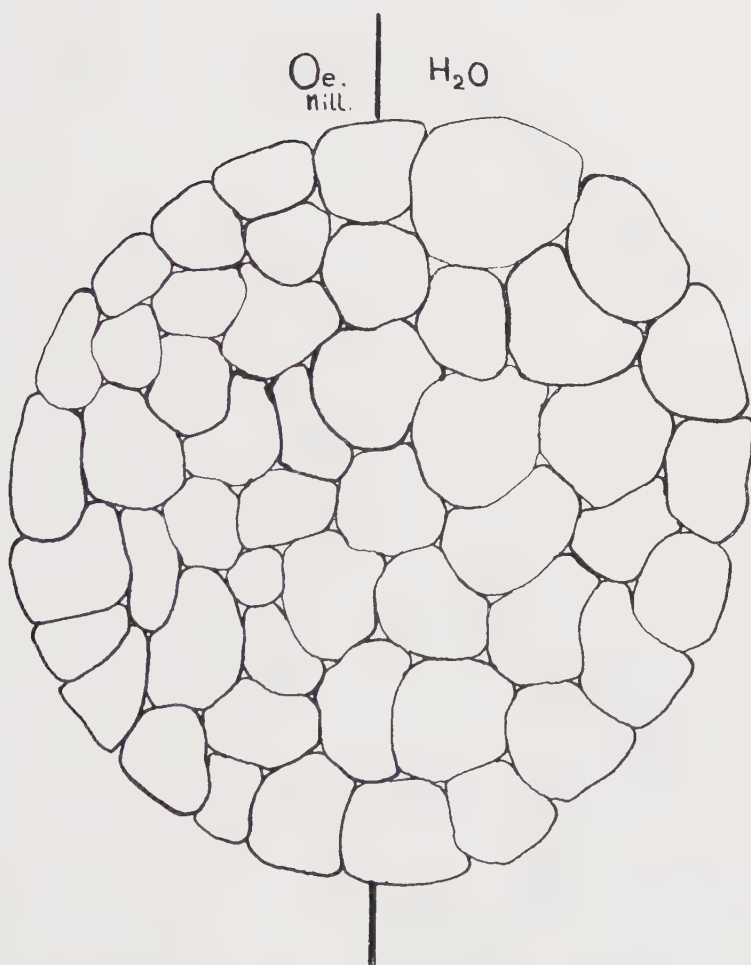


Abb. 5. Keim aus einer Milieudifferenzkammer.
Die Hormonseite hat sich rascher geteilt als die Wasserkontrollseite.

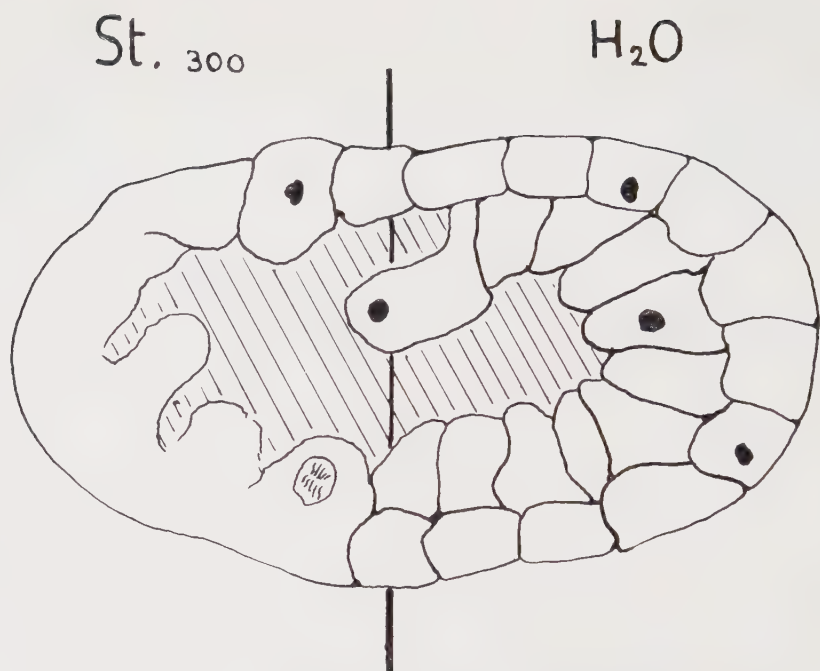


Abb. 6. Schnitt durch einen Keim aus einer Milieudifferenzkammer.
Die Interzellulärwände auf der Hormonseite sind z. T. aufgelöst.



Abb. 7. Schnitt durch einen Keim aus der Milieudifferenzkammer.
Auf der Hormonseite pigmentumrandete Cysten (gleicher Keim wie Abb. 2).

Abb. 8. Durch Pigment nur unscharf
angedeutete Interzellulärwände.

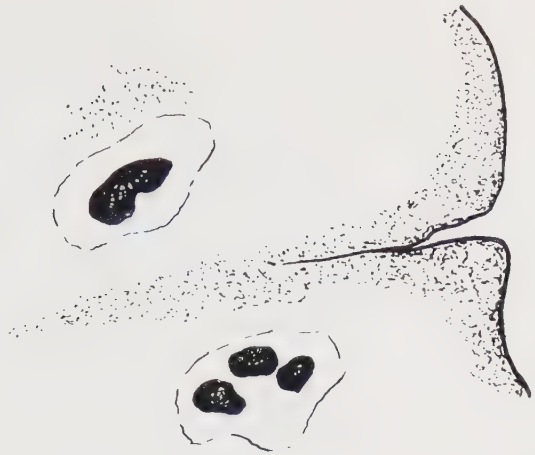


Abb. 9. Vom Exoplasma her strömen Pigment-
körner in das Zellinnere.

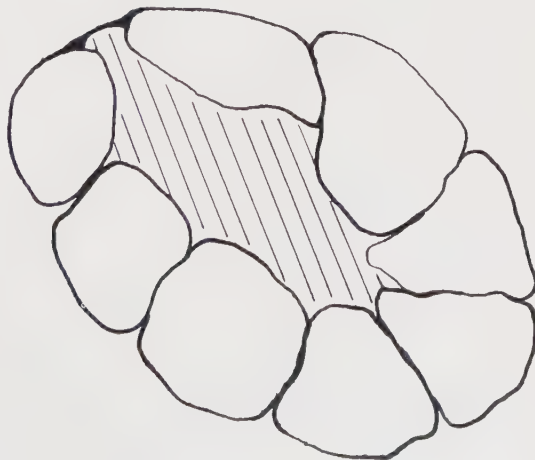


Abb. 10. Von Zellen umschalter Raum im
Inneren eines Keimes. Am oberen Pol
schließt eine „Plasmahaut“ den Hohlraum
gegen außen ab.

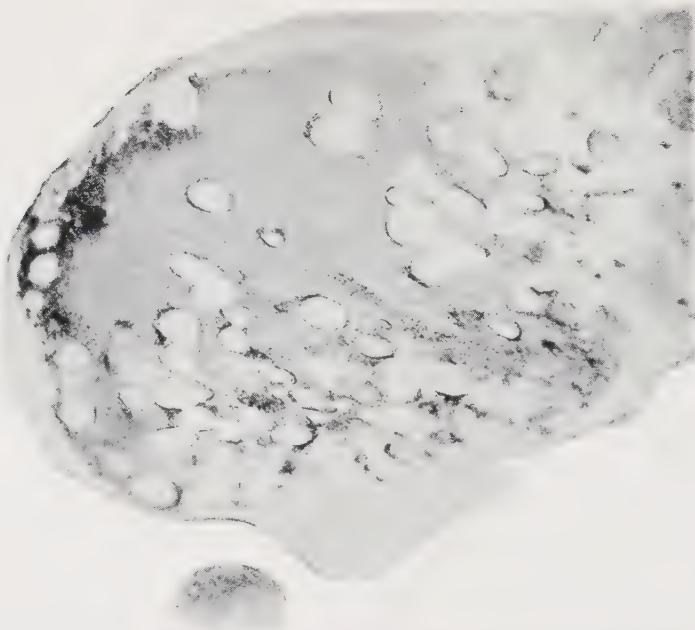


Abb. 11. Pigmentumrandete Cysten im Keiminneren eines Hormonkeimes.

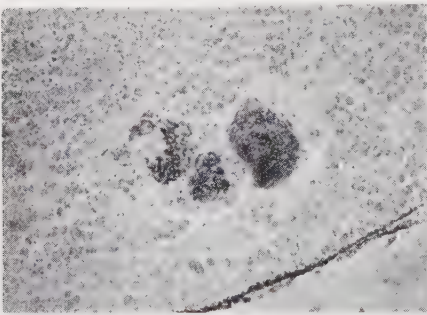


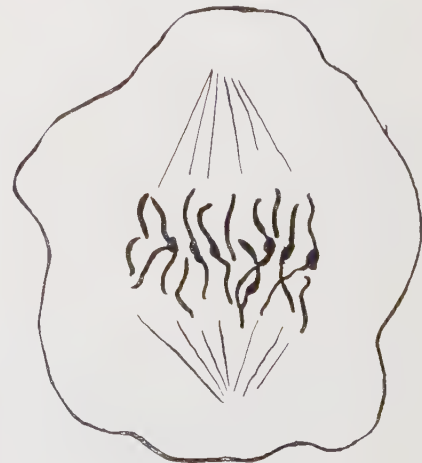
Abb. 12. In einer Zelle sind nebeneinander ein normales Kernbruchstück, eine fädige Partie und einzelne Chromosomen zu sehen.



Abb. 13. Chromosomen liegen ungeordnet im Teilungsraum. Es sind auch einzelne Chromosomenbruchstücke sichtbar.



a)



b)

Abb. 14. Mitosen mit a) Chromosomenabsprengungen, b) Chromosomenverklebungen.

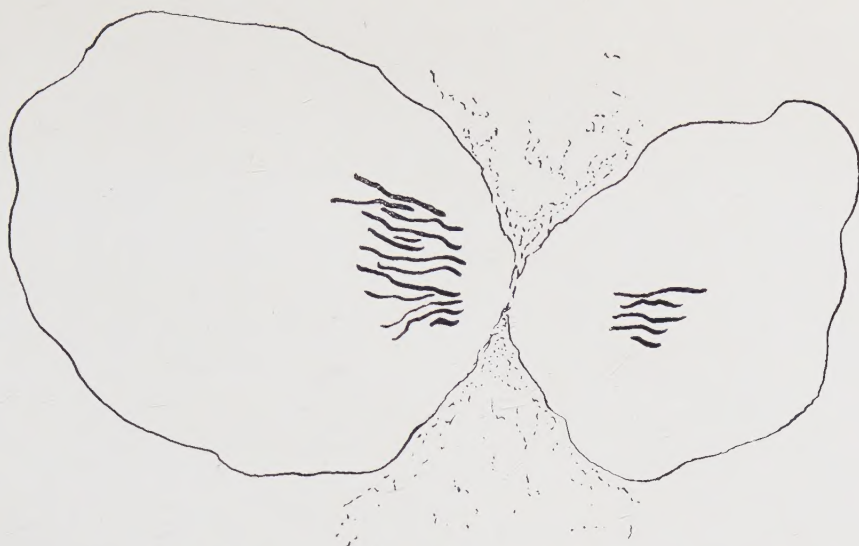


Abb. 15. Ungleiche Chromosomenverteilung auf 2 Tochterzellen.



a)



b)

Abb. 16, a) Chromatinbrücke zwischen 2 Kernteilen, b) mehrkernige Zelle.

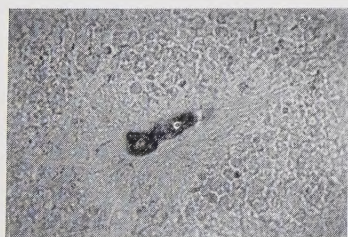


Abb. 17. Unregelmäßige Form und Verklumpung eines Kernes.



Abb. 18. Fädige Struktur eines Kernes.

